

厚生労働科学研究費補助金(第3次対がん総合戦略研究事業)  
分担研究報告書

国際協調に基づく日本人難治がんゲノムデータベースの構築(国際がんゲノムコンソーシアム研究)  
に関する研究

研究分担者 油谷浩幸 東京大学先端科学技術研究センター 教授

### 研究要旨

肝がん・低分化胃がんにおけるがんゲノム・エピゲノム異常を包括的・統合的に解析し、新たな治療標的の同定を進めた。国際がんゲノムコンソーシアムにおける大規模解析に参加し、国際連携に貢献した。

#### A. 研究目的

最新のゲノムシーケンス解析技術を駆使し、日本人に特徴的かつ健康対策上重要な固形がん(肝がん・低分化胃がん)におけるがんゲノム・エピゲノム異常を包括的・統合的に解析し、疫学的因子との関連や新たな治療標的の同定を進める。国際がんゲノム解析共同体における大規模解析に参加し、国際連携・貢献を果たす。

#### B. 研究方法

##### 1. 肝細胞がんのゲノム解析

エクソーム解析データについてがん研究センターおよび米国ベイラー大学ゲノム研究センターのグループと共同で解析を実施した。エクソーム解析で同定された頻度の高い体細胞変異についてはAmpliSeqにより増幅した産物をIon PI chip v2によりIon Proton(Life Technology)で配列決定した。

さらにRNA-seqにより、進行がん156検体、非癌部64検体に対して鎖特異的に100塩基ペアエンドのトランスクリプトームデータが得られた。エクソーム解析を実施した症例についてRNA-seq解析およびDNAメチル化解析を実施した。メチル化解析に関しては当センターが収集した266例(うち癌部210、非癌部56)、理化学研究所267例、がん研究センター236例の769検体について、HumanMethylation450 BeadChip(イルミナ社)を用いて解析した。

##### 2. 低分化型胃がんのゲノム解析

難治性である低分化型胃がんにおける新規治療標的を同定するために、東京大学医学部附属病院で収集された30症例の癌部および非癌部からマクロダイセクションにより抽出したゲノムDNAについて、SureSelect(Agilent) 試薬を用いて濃縮した全エクソン領域の配列解析を100塩基ペアエンドでHiSeq2000(イルミナ)を用いて実施した。

さらに低分化胃がん57例、腸型胃がん51例についてTruSeqカスタムアンプリコン試薬(イルミナ)を用いて46遺伝子のターゲットシーケンスをMiSeq(イルミナ)により200塩基ペアエンドで実施した。

##### (倫理面への配慮)

本研究計画については組織検体採取および検体解析に関して東京大学医学部附属病院および日本大学附属板橋病院における倫理委員会において承認を受けた。

#### C. 研究結果

##### 1. 肝細胞がんの統合ゲノム解析

エクソーム解析で同定された変異の97.4%(1021/1048)がIonProtonを用いた解析で確認された。

トランスクリプトームデータからキメラRNAの検

出を行い、同じ遺伝子の組み合わせで繰り返し転座が認められた候補についてRT-PCR法による確認を進めた。

Infiniumアレイを用いて45万箇所のCpGサイトのメチル化レベルに関して、713症例のプロファイルが得られた。

## 2. 低分化型胃がんのゲノム解析

低分化胃がんのゲノム解析に関する予備的検討として30例のエクソーム解析を実施し、本研究室で開発した解析パイプラインであるKarkinosを用いて塩基変異、コピー数変異解析を行ったところ、癌部102x、正常部99xのリード深度が得られ、6,616の体細胞変異(一塩基変異5,359, indel 1,257)が同定された。

追加の低分化胃がん57症例についてターゲットシーケンス解析を実施したところ、高頻度(22/87)で変異を来す新規治療標的分子を同定した。本遺伝子変異は高分化型の腸型胃癌51症例には検出されず、びまん性胃癌に特徴的な変異であると思われた。変異を有する細胞株に対して当該分子siRNAによるノックダウンを行なった結果、コントロール群と比較して約75%の細胞増殖抑制効果が認められた。

## D. 考察

肝細胞がんについて同一検体から体細胞変異、トランスクリプトーム、メチル化のデータが得られたことにより、今後統合ゲノム解析を行う予定である。

予後不良とされるびまん性胃癌において高頻度に変異が生じている分子が同定されたことにより、関与する増殖シグナルを標的とする治療薬の開発が期待されると共に、変異の有無と既存治療法の奏功性との関連についても研究の展開が期待される。

## E. 結論

肝細胞がんの統合ゲノム解析のためのデータが得られた。難治性とされる低分化型胃癌において高頻度な変異遺伝子を同定した。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hayashi A, Yamauchi N, Shibahara J, Kimura H, Morikawa T, Ishikawa S, Nagae G, Nishi A, Sakamoto Y, Kokudo N, Aburatani H, Fukayama M. Concurrent Activation of Acetylation and Tri-Methylation of H3K27 in a Subset of Hepatocellular Carcinoma with Aggressive Behavior. PLoS One. 9(3):e91330. 2014
- 2) 油谷浩幸 “ゲノム変異解析” 雑感 医学のあゆみ 245(5): 471-475, 2013
- 3) 油谷浩幸 次世代高速シーケンサー技術の成果からみた消化器癌個別化医療の将来は 分子消化器病 10(4):354-361, 2013
- 4) 油谷浩幸 がんゲノムプロジェクト 実験医学 31(15):2438-2445, 2013
- 5) 油谷浩幸 エピゲノム解析法 遺伝子医学 MOOK 25: 50-54, 2013
- 6) 油谷浩幸 「網羅的解析研究」雑記帳 血管医学 14(4):411-417, 2013

### 2. 学会発表

- 1) 油谷浩幸 第17回日本がん分子標的治療学会学術集会(6/13/2013) Year in review 「がんゲノム解析と分子標的治療」
- 2) 油谷浩幸 第11回日本臨床腫瘍学会学術集会(8/31/2013)教育講演: Latest Medical Care 「Tumor profiling in clinical practice」
- 3) 油谷浩幸 第13回東北がん分子標的治療研究会(11/15/2013) 「がんゲノム解析の現状と医療応用へ向けての課題」

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他